

Microscopía crio-electrónica

por Fausto Felipe Morales González

Segundo trabajo

[Amador-Bedolla(2018)] Conocer la posición atómica es vital para la caracterización de materiales, para lograrlo es necesario de emplear interacciones de la materia a estas escalas. Dada su importancia, el conocimiento y dominio de estas técnicas ha sido galardonada por diversos premios nobeles. Algunos de estas interacciones galardonadas han sido por ejemplo: la difracción, que permite deducir la distancia entre átomos ordenados periódicamente en distintos planos lo que ayuda a deducir su posición espacial; y la resonancia magnética, que nos brinda información que permite deducir que átomo se encuentra junto a que otro y saber cuál es el más cercano al resto.

La microscopía crio-electrónica de una sola partícula (*cryo-Electron Microscopy* o *cryo-EM*) es otro método que nos permite interactuar a escalas atómicas que se desarrolló a lo largo de 40 años y recibió el premio Nobel de Química en el año 2017. El premio se otorgó "por la determinación de estructuras de alta resolución de biomoléculas en solución", dicho método logra detectar la estructura tridimensional de complejos biológicos como las proteínas además de que permite el estudio del movimiento molecular, dato vital para las funciones bioquímicas de las proteínas.

El método se basa en el sistema de microscopía electrónica el cual emplea un haz de electrones acelerados que con una energía suficiente y bien determinada para que su longitud de onda debida a su dualidad onda-partícula logre interactuar de con las escalas atómicas. Así se busca medir la reflexión, dispersión o difracción de nuestro haz tras su choque con la muestra. Sin embargo existían muchas complicaciones para realizar esta técnica al análisis en muestras biológicas, que van desde el empleo de alto vacío, que obliga a colocar la muestra en un solvente, que dificulta el análisis de datos hasta el efecto destructivo del haz hacia la muestra y su poca profundidad.

El nobel consistió en premiar a tres científicos que lograron el desarrollo y perfección de esta técnica:

Jacques Dubochet

Trabajó en la preparación de las muestras biológicas para acoplarlas a la microscopía electrónica, esto dio lugar a la técnica de microscopía crio-electrónica.

[R. Wilson(2015)] El desarrollo de este método surgió debido a que el investigador reconoció que para preservar la estructura natural de las muestras biológicas tenían que permanecer en su entorno natural, en agua. Para evitar la evaporación en el vacío de la columna del microscopio electrónico, el agua debe congelarse, pero los cristales de hielo causan riesgos adicionales a las muestras delicadas. Fue entonces cuando Dubochet se propuso encontrar una forma de congelar el agua sin producir cristales. Esto lo logró al enfriar el solvente a gran velocidad para que no condensase en forma cristalina sino vítrea. Hecho que además permitió que las muestras se mantuvieran en su estado original sin la necesidad de tintes o fijadores.

[Amador-Bedolla(2018)] El método de preparación de la muestra puede resumirse de la siguiente forma: Empleando una capa de carbono altamente poroso sobre una placa metálica que sirva sólo de soporte se aplica la solución buscando que el líquido penetre en los poros. Se limpia la solución sobrante de la superficie de la malla. Se coloca la solución a temperatura de criogenia (Para el etano, esta temperatura se logra debajo de los $-190\text{ }^{\circ}\text{C}$), todo esto para garantizar que la proteína no se deforme cuando se someta al alto vacío. Se coloca la muestra en el microscopio electrónico.

Joachim Frank

El análisis de datos de múltiples partículas sencillas, orientadas de distinta manera, se vuelve complejo: Si el objetivo (la proteína) se encuentra orientado en

alguna región particular su señal será similar pero habrá una interferencia del solvente; para analizar los resultados hay que construir la forma de distinguir las señales e identificar las distintas regiones espaciales, y para lograrlo se necesitan además muchas mediciones.

La información tridimensional se puede reconstruir a partir de las mediciones suficientes (de hasta cientos de miles) de las señales bidimensionales, donde cada una corresponde a una proteína individual orientada en una región particular de una misma partícula. De aquí el nombre de microscopía crioelectrónica de una sola partícula.

Es allí donde entra la computación que automatiza las matemáticas aplicadas de alto nivel, para realizar todo este análisis y poder deducir la información tridimensional de la proteína.

[Nobelprize.org(2014)] Al investigador se le premia por haber desarrollado los métodos de análisis de imágenes para permitir ensamblar biomoléculas y producir imágenes en 3D a partir de muchas imágenes en 2D. [bbc.com(2017)] Fue él quien hizo que la teoría fuese más fácil de aplicar en un marco general.

[Amador-Bedolla(2018)] Los actuales softwares emplean matemáticas estadísticas como análisis de componentes principales, métodos de máxima probabilidad (maximum-likelihood), el abordaje empírico de la estadística Bayesiana, métodos de ajuste flexible de dinámica molecular. Un ejemplo de software es [mrc lmb.cam.ac.uk(2017)] RELION desarrollado en el grupo de *Sjors Scheres* en el Laboratorio de Biología Molecular de *MRC*.

Richard Henderson

[Amador-Bedolla(2018)] La recolección de los datos que indican a dónde fueron desviados los electrones se hizo inicialmente con películas fotográficas. A principios de este siglo Henderson promovió su remplazo por detectores electrónicos digitales, conocidos como aparatos digitales de carga acoplada (*digital charge-coupled device*). Los dispositivos aumentaron la resolución de la señal junto con la capacidad de acumular la información a mucha mayor velocidad, lo que automatizó la detección.

El aumento en la resolución de la detección digital permitió que los datos de las partículas brindaran distintos estados del movimiento característico de la proteína cuando esta se encontraba a temperatura ambiente. La detección digital acumula tanta información que permitió el estudio de cómo actúan estas *in vivo*.

[bbc.com(2017)] Con esta tecnología ahora podemos entender aún más cómo se construyen y cómo actúan las proteínas, así como su función en comunidades grandes,[Amador-Bedolla(2018)] ya que nos permite la detección de estructuras de proteínas de membrana y la detección de su dinámica funcional. [bbc.com(2017)] De acuerdo a algunas opiniones estamos presenciando una revolución en bioquímica.

[Amador-Bedolla(2018)] Los avances que permitieron el desarrollo de la técnica pertenecen a disciplinas distintas. Así la física, química, matemática, ciencia de la computación y electrónica se conjuntan para el progreso de la bioquímica. Un claro ejemplo de trabajo para orientar la investigación moderna.

FFMG

Nota: La mayor parte de este trabajo se realizó con cita al genial trabajo de Carlos Amador-Bedolla de la revista Educación Química de la UNAM.

Referencias

[Amador-Bedolla(2018)] C. Amador-Bedolla, *El premio nobel de química 2017: microscopía crioelectrónica* (2018), [Web; accedido el 08-06-2018], URL <http://www.revistas.unam.mx/index.php/req/article/view/63678/55936>.

[R. Wilson(2015)] A. G. R. Wilson, *Celebrating excellence* (2015), [Web; accedido el 08-06-2018], URL <https://news.embl.de/alumni/1508-kendrew-philipson/>.

[Nobelprize.org(2014)] Nobelprize.org, *Joachim frank - interview* (2014), [Web; accedido el 08-06-2018], URL https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2017/frank-interview.html.

[bbc.com(2017)] bbc.com, *Premio nobel de física 2005 la óptica acaparó el nobel de física* (2017), [Web; accedido el 05-04-2018], URL <http://www.bbc.com/mundo/noticias-41497242>.

[mrc lmb.cam.ac.uk(2017)] mrc lmb.cam.ac.uk, *Main page* (2017), [Web; accedido el 08-06-2018], URL https://www2.mrc-lmb.cam.ac.uk/relion/index.php?title=Main_Page.